



TITLE:

Genomic analysis of the marine hyperthermophilic archaeon Aeropyrum(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Daifuku, Takashi

CITATION:

Daifuku, Takashi. Genomic analysis of the marine hyperthermophilic archaeon Aeropyrum. 京都大学, 2015, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19034>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により本文は2019-08-01に公開

(続紙 1)

| | | | |
|--|--|----|-------|
| 京都大学 | 博士（農学） | 氏名 | 大福 高史 |
| 論文題目 | Genomic analysis of the marine hyperthermophilic archaeon <i>Aeropyrum</i> （海洋性超好熱古細菌 <i>Aeropyrum</i> 属のゲノム解析） | | |
| （論文内容の要旨） | | | |
| <p>深海熱水孔は一般に還元的環境であるため、多くの分離菌は嫌気性好熱菌である。しかし至適増殖温度が90℃以上の超好熱古細菌<i>Aeropyrum</i>属は、超好熱性かつ好気性という稀有な表現形質を示す。そのため、本属古細菌は耐熱性と耐酸素性を兼ね備えた酵素を生産する貴重な遺伝子資源である。しかしながら、本属古細菌において<i>Aeropyrum pernix</i> 1株の全ゲノム配列が明らかとなっているのみで、その産業利用に向けた知見集積のためにも近縁種のゲノム解読が重要である。本論文では、深海熱水孔産<i>Aeropyrum camini</i>の全ゲノム解読を行い、近縁種である浅海熱水孔産の<i>A. pernix</i>と比較することで重要な知見を得た。好気性<i>Aeropyrum</i>属古細菌は熱水環境に適応したスペシャリストで、高度に保存されたゲノム構造を有するものの、その多様化にウイルスが深く関与することが強く示唆された。さらに、本属が属しているクレンアーキオータ門には<i>Aeropyrum</i>属と同様にスペシャリスト型古細菌と、幅広い環境に適応するゼネラリスト型古細菌が存在し、スペシャリストではゲノム多様化に対するウイルスの寄与が大きいことが示唆された。</p> | | | |
| 1. 超好熱古細菌 <i>Aeropyrum camini</i> と <i>Aeropyrum pernix</i> の比較ゲノム解析 | | | |
| <p><i>Aeropyrum</i>属は系統的に近縁な<i>A. camini</i>と<i>A. pernix</i>の2種からなる。<i>A. camini</i>は伊豆小笠原島弧の水曜海山深海熱水孔（深度1385 m）から、<i>A. pernix</i>は鹿児島県トカラ列島小宝島浅海熱水孔から各々分離され、両者の表現形質は極めて類似している。</p> <p>まず、<i>A. camini</i>ゲノムの8 kbペアエンドライブラリーを作成し、ロシュ社の次世代シーケンサーGenome Sequencer FLXを用いてシーケンスした。GS <i>De Novo</i>アセンブラーで、10個のコンティグからなる総塩基数約1.6 Mbpの単一スキャフォールドを構築した。コンティグ間をプライマーウォーキング法によってシーケンスし、最終的に1つの環状ゲノムの解読に成功した。Microbial genome annotation pipelineを用いてゲノムの注釈付けを行った。<i>A. camini</i>のゲノムは小さく（1.60 Mbp）、GC含量が高い値（56.7%）を示した。また、タンパク質をコードする遺伝子は1645個であり、これらの基本性状は<i>A. pernix</i>と類似していた。また、両者は共通祖先に由来し同じ機能を持つ遺伝子（オルソログ遺伝子）を多く（88%）共有していた。</p> <p>両種は生息環境が異なるにも関わらず、オルソログ遺伝子の配置順（シンテニー）は高度に保存され、大規模なゲノム再編は認められなかった。これは、本属ゲノム上にゲノム再編の起点となる可動性遺伝因子（挿入配列およびMiniature inverted repeat transposable element）が少ないことによると考えられた。さらに、本属に必要な遺伝子を残してゲノムを縮小させていたことから、その祖先は酸化的熱水環境に局所適応し、ゲノムの再編に伴う転写制御の変化が許容されないと推察された。このように、好気性<i>Aeropyrum</i>属古細菌は熱水環境に適応したスペシャリストであると考えられた。一方、シンテニー崩壊箇所がわずかに認められ、その主要な要因はまず、古細菌</p> | | | |

で初めて見出された*A. pernix*の2つの溶原化ウイルス（APOV1とAPSV1）に由来した。また、ウイルスに対する獲得免疫機構CRISPR（Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat）/Casシステムにおいて顕著なシンテニー崩壊が認められた。*A. camini*と*A. pernix*の両種は3つのCRISPR/Casを共有し、*A. camini*はそれに加えて1つの独自のCRISPR/Casを有していた。さらに、CRISPRに含まれるスペーサー配列（ウイルス感染履歴）の組成はまったく異なっていた。2つの溶原化ウイルスを欠如した*A. camini*のCRISPRに由来する59個のスペーサー配列の内、3つのスペーサー配列がAPOV1あるいはAPSV1のゲノム配列と相同性を示した。これは*A. camini*と*A. pernix*が、近縁であるが遺伝的に異なるウイルスとそれぞれの生息環境で相互作用したことを示している。さらに、両種はオルソログ遺伝子を多く共有していたが、各種はオルソログでない遺伝子も保有しており、その由来を解析した。その結果、オルソログでない遺伝子の内、ウイルスに由来する遺伝子が最も多かった。したがって、好気性である*Aeropyrum*属古細菌は熱水環境のスペシャリストとしてゲノムの大きな改編が許容されないが、ウイルスによりゲノム可塑性を示すことが示唆された。

2. クレンアーキオータ門好熱古細菌の比較ゲノム解析

クレンアーキオータ門古細菌は、海洋や陸地の熱水環境に生息する好熱菌から構成され、スペシャリスト型生物が多いと推察される。そこで、1.で見い出した*Aeropyrum*属のウイルスによるゲノム進化の様式が、本門古細菌のゲノム進化に寄与しているのかを検証した。クレンアーキオータ門に属する古細菌9属26種から合計43株のゲノム配列をNCBIのRefSeq（Reference Sequence）データベースより得て、同属内の合計240ペアを網羅的にゲノム比較した。進化とともにゲノム上の遺伝子の位置関係が変化する古細菌は、多様な適応を示すゼネラリストであると推察された。一方、*Aeropyrum*属古細菌を含む10ペアのクレンアーキオータ門古細菌は、ゲノム縮小化が起こった後、自身の生息環境に適応したスペシャリストであると推察された。スペシャリストではその祖先生物で不必要な遺伝子を脱落させ、遺伝子レパートリーが類似していることが示された。さらにスペシャリストは、自身のゲノムの変化を許容しにくいものの、ウイルスと相互作用することでゲノムを多様化させていることが示唆された。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

好気性で超好熱性の*Aeropyrum*属古細菌はクレンアーキオータ門に属し、海洋性の熱水環境に生息している。本属古細菌は、応用面において耐熱性と耐酸素性を示す酵素の遺伝子資源であり、利用のみならずその耐性メカニズムを知るうえでも重要である。しかし、本属では浅海で分離された*A. pernix* 1株のゲノム配列が明らかになっているのみで、将来的な生物資源探査のためのデータ集積や、生理生態学的知見および本属古細菌の多様性を知るうえでも近縁種のゲノム情報は非常に重要である。本論文では深海で分離された*A. camini*の全ゲノムを解読し、そのゲノム構造の特性と多様化の様式を明らかにした。その主な成果は以下の3点に大別される。

(1)深海産 *A. camini*の全ゲノム配列の解読に成功した。浅海産の近縁種*A. pernix*のゲノムと比較することで、*Aeropyrum*属古細菌は大規模なゲノムの再編を許容しないことを示し、両種の共通祖先は必要な遺伝子のみを残してゲノムを縮小化させ、酸化的熱水環境に適応したスペシャリスト型であることを示唆した。

(2) *Aeropyrum*属のゲノムは非常に保存的であるものの、わずかに認められた差異は顕著にウイルス関連因子に由来することを示し、*Aeropyrum*属古細菌はウイルスと相互作用することでゲノムを多様化させていることを示唆した。

(3) *Aeropyrum*属が属するクレンアーキオータ門には、局所環境に適応したスペシャリストと多様な環境適応を示すゼネラリストが存在し、スペシャリストはウイルスの影響を受けて多様化していることが示唆された。

以上のように、本論文は有用遺伝子資源である超好熱古細菌*Aeropyrum*属の新たな全ゲノム情報を提供し、本属のゲノム多様性について明らかにしたものであり、海洋微生物学、マリンバイオテクノロジーに寄与するところが大い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成27年 2月 6日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)